

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58—155087

⑤ Int. Cl.³
 C 12 N 5/00
 C 12 M 3/00
 //(C 12 N 5/00
 C 12 R 1/91)

識別記号

庁内整理番号
 7235—4B
 6971—4B
 —
 6760—4B

④ 公開 昭和58年(1983)9月14日

発明の数 2
 審査請求 未請求

(全 26 頁)

⑭ 細胞の自動培養方法およびその装置

① 特 願 昭57—39152

② 出 願 昭57(1982)3月12日

⑦ 発 明 者 井沢正雄

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番
 2号オリンパス光学工業株式会
 社内

⑦ 発 明 者 立川幸子

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番
 2号オリンパス光学工業株式会
 社内

⑧ 出 願 人 オリンパス光学工業株式会社
 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番
 2号

⑨ 代 理 人 弁理士 藤川七郎

明 細 書

1. 発明の名称

細胞の自動培養方法およびその装置

2. 特許請求の範囲

(1) 被培養細胞の収納された培養容器中から不要な培養液を除去する廃液工程と、

上記被培養細胞を上記培養容器の生育面から剥離する剥離工程と、

上記培養容器に新たな培養液を注入して攪拌することにより、上記被培養細胞を単個化する攪拌工程と、

上記単個化された多数の被培養細胞を含む培養液を、2個以上の新しい培養容器に分けて注入する分注工程と、

上記新しい培養容器中に不足する培養液を注入する給液工程と、

上記新しい培養容器中の被培養細胞を増殖させる培養工程とを、

一定の雰囲気内に保たれた培養室内で自動的に行なうことを特徴とする、細胞の自動培養方法。

(2) 上記剥離工程が、上記培養容器中に洗浄液を注入して上記被培養細胞を洗浄する洗浄工程と、上記培養容器中から上記洗浄液を除去する廃液工程と、上記培養容器中に酵素液を注入して上記被培養細胞を上記生育面から遊離させる酵素処理工程と、上記培養容器中から上記酵素液を除去する廃液工程と、上記培養容器に機械的な振動を加え、上記被培養細胞を上記生育面より物理的に剥離させる振動工程と、からなることを特徴とする、特許請求の範囲第1項記載の細胞の自動培養方法。

(3) 上記攪拌工程が、上記培養容器中の培養液を、同容器中に数回に亘って出し入れすることによって行なわれることを特徴とする、特許請求の範囲第1項記載の細胞の自動培養方法。

(4) 一定の雰囲気に保たれた培養室と、被培養細胞の収納された培養容器中から不要な培養液を除去する廃液装置と、

上記被培養細胞を上記培養容器の生育面から剥離する剥離装置と、

上記培養容器に新たな培養液を注入して攪拌することにより、上記被培養細胞を単個化する攪拌装置と、

上記単個化された多数の被培養細胞を含む培養液を、2個以上の新しい培養容器に分けて注入する分注装置と、

上記新しい培養容器中に不足する培養液を注入する給液装置と、

上記廃液装置、剥離装置、攪拌装置、分注装置および給液装置の動作を制御する制御装置と、を具備して、

上記制御装置によって、上記廃液装置、剥離装置、攪拌装置、分注装置および給液装置の動作を制御することにより、上記培養室中で次世代培養用の培養細胞を自動的に作成するようにしたことを特徴とする、細胞の自動培養装置。

- (5) 上記培養室に、上記培養容器中の培養細胞の増殖状態を外部から観察するための観察装置を設けたことを特徴とする、特許請求の範囲第4項記載の細胞の自動培養装置。

- (6) 上記培養室に、上記培養容器を自動的に搬入、搬出するための搬入・搬出装置を設けたことを特徴とする、特許請求の範囲第4項記載の細胞の自動培養装置。

- (7) 上記培養室に、上記培養容器を、上記廃液装置、剥離装置、攪拌装置、分注装置および給液装置に向けて移動させるための転送装置を設けたことを特徴とする、特許請求の範囲第4項記載の細胞の自動培養装置。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、細胞の自動培養方法およびその装置、更に詳しくは、細胞の継代培養を一定の雰囲気内に保たれた培養室内で自動的に行なう培養方法、およびそれに使用する培養装置に関する。

周知のように、生体組織および細胞の培養技術は、医学、生物学、薬学、農学等のあらゆる分野において、細胞レベルの研究を行なうために必要不可欠な基礎実験技術である。しかし、生体組織および細胞を継代培養して安定した細胞株を得ることは技術的に難しく、従来は、一般に以下に述

べるような順次の工程を経て行なわれていた。

初めに、シャーレや培養用角瓶等の培養容器中に、単個化した被培養細胞を所定数収納し、これを培養液を注入することによって希釈する。すると、被培養細胞は培養液中で浮遊した状態となるので、この培養容器を所定の雰囲気内に保たれた培養室（例えば、温度37℃、湿度100%、炭酸ガス濃度5%）内に静置して細胞を増殖させる。所定期間経過後、培養容器を培養室内から取り出し、顕微鏡等の観察手段により細胞の培養状態を観察する。そして、必要とする分の細胞が増殖したことが確認された場合には、無菌状態のクリーンベンチ等内で無菌操作にて、次世代の培養系の作成に入る。

これはまず、培養容器中の培養液をビベット等で吸引して廃棄する。次に、培養容器中に残った細胞を、リン酸緩衝液等でなる洗浄液を注入することにより洗浄し、この後、洗浄液をビベット等で吸引して廃棄する。この洗浄工程は、古い培養液を洗い流し、次に述べる酵素処理工程において、

酵素が有効に機能を発揮できるようにするために行なわれる。続いて、培養容器の底面に着床して増殖した細胞を、生育面である上記底面より遊離させるために、トリプシン等の蛋白質分解酵素を含む酵素液を培養容器内に注入し、酵素を細胞に一定時間作用させる。次で酵素液をビベット等で吸引して廃棄した後、新しい培養液を培養容器中に注入し、これをビベット等で複数回に亘り吸引、排出を繰り返すことによって攪拌して、遊離した細胞を単個化し、培養液中に再浮遊させる。そして、単個化して再浮遊した多数の細胞を含む培養液を所定量ずつ複数の新たな培養容器中に分けて注入し、更に不足する培養液を補注して、次世代の培養系の作成を完了する。

次に、次世代の培養を行う培養細胞の収納された、上記複数の培養容器を所定の雰囲気内に保たれた培養室内に再び移し、その細胞を増殖させることによって培養を続行する。

このようにして、従来は生体組織および細胞の継代培養を行なっていたが、しかし、この継代培

養方法は、用手法であり、このため、種々の欠点があった。即ち、培養工程における順次の操作を行うたびに、培養容器を培養室外に取り出さなければならず、この際の環境条件の変化により、細胞が影響を受けて、増殖状態や寿命等が変化するという欠点があった。また、雑菌の混入等により、細胞が汚染されて死滅したり、変成したりするという欠点があった。さらに、培養技術者によりその手作業が異なり、その違いが細胞に様々な影響を与えて、細胞の増殖状態、寿命、形態等が変化し、一定の条件の下での標準化された培養を行ない得ないという欠点があった。さらにまた、培養細胞が病原菌等である場合には、バイオハザード（生物学的汚染）のおそれがあり、安全性にも問題があるという欠点もあった。

本発明の目的は、上記従来の種々の欠点を解消するために、一定の雰囲気（例えば、温度 37℃、湿度 100%、炭酸ガス濃度 5%）に保たれた培養室内で自動的に次世代の培養系を作成できるようにして、細胞の継代培養を一定の条件で連続的に行なえるようにした細胞の自動培養方法およびその装置を

提供するにある。

本発明によれば、培養室内で細胞の継代培養に要する全工程を自動的に連続して行なうことができるので、環境条件の変化による培養細胞への悪影響を除去することができると共に、雑菌の混入等の事故を有効に防止することができる。

また、培養工程における各種操作を自動化することにより、各種操作の標準化、統一化を図ることが可能となり、均一な培養細胞を安定して得ることができる。

さらに、培養細胞が培養室外にもれるおそれが少ないので、バイオハザードの危険性が少なく、安全度の高い培養を行なうことができる。

等の前記従来の欠点を悉く解消した、顕著な効果を発揮する細胞の自動培養方法およびその装置を提供することができる。

以下、本発明の方法および装置を、図示の一実施例に基づいて説明する。

第 1 図は、本発明の一実施例を示す細胞の自動培養装置を示している。この自動培養装置 1 は、

同装置 1 の外装枠を形成する直方体状の筐体 2 の中央部に、一定の雰囲気（例えば、温度 37℃、湿度 100%、炭酸ガス濃度 5%）に保たれた培養室 3 が設けられていて、この培養室 3 に収納された培養容器であるシャーレ 4 に対して各種操作を加えるために種々の装置が付設されて構成されている。即ち、本自動培養装置 1 は、上記培養室 3 と、この培養室 3 に上記シャーレ 4 を自動的に搬入、搬出するための搬入・搬出装置 5 と、搬入されたシャーレ 4 を所定の各操作位置に移送する転送装置 6 と、上記シャーレ 4 内から不要になった液を吸引除去する廃液装置 7 と、上記シャーレ 4 内に培養に必要な液を供給する給液装置 8 と、上記シャーレ 4 に振動を加えて培養細胞を生育面から剥離させる剥離装置 9 と、上記シャーレ 4 中の液を攪拌したり、他の新しいシャーレ 4 に分注したりするための分注装置 11 と、新しいシャーレ 4 を供給するためのシャーレ供給装置 12 と、上記各種装置の動作を自動的に制御する制御装置 13 と、上記シャーレ 4 中の培養細胞を外部から観察する

ための観察装置 14 とで、その主要部が構成されている。

上記搬入・搬出装置 5 は、第 1 図および第 2 図に示すように、筐体 2 の右側壁のほぼ中央位置付近に、第 3 図に示すように、培養室 3 との外部とを連通するように設けられており、同装置 5 のハウジング 21 内は、筐体 2 の右側壁およびハウジング 21 内に形成された中間壁 22 によって、内室、中間室および外室の 3 室に区切られている。上記内室には、中央を支軸 23a によって回転自在に軸支されたベルトコンベア 23 が、また、中間室には、シャッター 24 およびこれを開閉するソレノイド 25、並びにベルトコンベア 26 が、さらに、外室には、シャッター 27 およびこれを開閉するソレノイド 28、並びにベルトコンベア 29 が、それぞれ配設されている。

上記ベルトコンベア 23 は、その内端部がハウジング 21 の、上記内室の外壁に穿設された開孔 21a を通って培養室 3 内まで延び出しており、同内端部とハウジング 21 とに掛け渡された緊縮性のコイ

ルばね31によって、支軸23aの周りを反時計方向に回転する習性を与えられている。この習性によるコンベア23の回転は、同コンベア23の外端部に連結された上記シャッター24が筐体2の右側壁に穿設された開孔2aを閉成した位置に停止することによって規制されている。この規制位置で、コンベア23の内端部は、後に詳述する転送装置6の載置部材42の下位に対応するようになっている。以下、コンベア23の内端部と対応する載置部材42の位置を、搬入・搬出位置と呼ぶことにする。このコンベア23は、上記シャッター24が開かれたときにばね31の弾力に抗して時計方向に回転され、上記中間室のコンベア26から移送されてきたシャーレ4をその搬送力によって移送し転送装置6に載置したり、内端部に設けられた係合爪23bによってシャーレ4を引っ掛けてコンベア23上に載せて上記中間室のベルトコンベア26に向けて搬出したりするようになっている。中間室内の上記シャッター24は、上記開孔2aを気密的に開閉するように摺動可能に配設されていて、ソレノイド25に

よって開閉動作されるようになっている。そして、上記開孔2aと対応する高さ位置には、上記ベルトコンベア26が配設されている。また、外室内の上記シャッター27は、中間壁22に穿設された開孔22aを気密的に開閉するように摺動可能に配設されており、ソレノイド28によって開閉動作されるようになっている。このように、中間室は、両シャッター24,27によって気密的に開閉自在となっており、培養室3と外部とを直接連通させないための緩衝室となっている。この中間室を設けることにより、培養室3内の環境条件の急激の変化を防止することができると共に、外部からの雑菌等の培養室3内への侵入を予防することができる。そして、上記開孔22aに対応する高さ位置には、上記ベルトコンベア29が配設されていて、同コンベア29の外端部は、ハウジング21の外室の外壁に穿設された開孔21bを介して外部に露呈するトレイ32に対応している。

このように構成された搬入・搬出装置5によれば、シャーレ4の搬入時には、各ベルトコンベア

23, 26, 29の各駆動ローラーを反時計方向に回転させると共に、ソレノイド28,25に通時通電してシャッター27,24を開閉すれば、トレイ32上から送り込まれたシャーレ4がコンベア29, 26, 23によって順次搬送され、その搬送力によりシャーレ4が転送装置6上に自動的に載置される。また、シャーレ4の搬出時には、各ベルトコンベア23, 26, 29の各駆動ローラーを時計方向に回転させると共に、ソレノイド25,28に通時通電してシャッター24,27を開閉させれば、転送装置6上のシャーレ4が係合爪23bによって引っ掛けられてコンベア23上に載せられ、コンベア23, 26, 29によって順次搬送され、トレイ32上にシャーレ4が取り出される。なお、後に詳述するよう、転送装置6の載置部材42には、ベルトコンベア23の内端部を嵌入するための切欠42bが設けられていて、ベルトコンベア23の回転は載置部材42によって阻害されることはない(第4図参照)。

上記転送装置6は、第1図に示すように、培養室3内に設けられた基板33上に配設された回転テ

ーブルで構成されていて、モーター34により回転駆動されるようになっている。即ち、転送装置6は、第4図に示すように、上記基板33に植立された支軸35aによって回転自在に支持された回転円板35と、この回転円板35の外周面に刻設された歯車35bに出力歯車36を噛合させて、同円板35を回転させる上記モーター34と、上記回転円板35の周縁部に各基部を固着されて等間隔に配設された複数のシャーレ載置部37と、このシャーレ載置部37の移動位置の検出を行なうための、回転位置および初期位置検出用の光学センサー44a, 44bとで、その主要部が構成されている。

上記シャーレ載置部37は、第5図にその要部を示すように、基部を上記回転円板35に固着された腕状の支持部材38と、この支持部材38の先端部に支軸39によって揺動自在に取り付けられた、平面形状が逆コの字形を呈する揺動部材41と、この揺動部材41の先端段部に固着された、一部が切り欠かれた円環状の載置部材42と、上記支持部材38の下面に一端が、上記揺動部材41の下面に他端が

それぞれ固着された二重の板ばね部材43と、上記載置部材42の先端部寄りの外周面に貼設された回動位置および初期位置検出用の光反射部材45a、45bとで構成されている。なお、初期位置検出用の光反射部材45bは、複数のシャーレ載置部37のうちの1つのシャーレ載置部37のみに設けられている。上記揺動部材41は、逆コの字形の凹部に支持部材38の先端部を嵌入させた状態で支軸39によって揺動自在に枢着されており、上記板ばね部材43の弾力によって、先端部を上方に向けて回動させるような付勢力を受けている。この付勢力による揺動部材41の回動は、平生は、図示しない規制手段によって、上記載置部材42を水平状態に保つ位置に規制されている。上記板ばね部材43が2重構造となっているのは、長期間の使用によっても弾力が劣化しないように、耐久性としなやかさを持たせるためである。上記載置部材42は、載置したシャーレ4が転送時に容易に脱落しないように、上面外周部にシャーレ4の底面壁の外径よりも若干大きな内径を有する突縁42aを備えており、

また、一部切り欠き部は同部に前述した搬入・搬出装置5のベルトコンベア23の内端部が嵌入して、シャーレ4を載置したり、取り外したりできるように形成したもので、これは載置部37の長手方向に対して一定角度傾いた切欠部42bで形成されている。

上記光学センサー44a、44bは、上記光反射部材45a、45bと対向し得る高さ位置に配設されていて、自ら発した光を光反射部材45a、45bで反射した後を受光して、シャーレ載置部37の位置検出を行なうようになっている。この光学センサー44a、44bは、ともに上記制御装置13に接続されていて、制御装置13は、両光学センサー44a、44bの出力に基づいて上記モーター34の回転を制御し、シャーレ載置部37を適正位置に移動させるようになっている。

なお、第1図および第4図中、符号46は、回転円板35の外周面の3等分位置にそれぞれ圧接して、同円板35の回転を円滑に規制する3個のガイドローラーを示している。

上記廃液装置7は、第1図に示すように、本体部が、筐体2内の、培養室3の上位に設けられた機械室47内に収納されていて、培養室3の天井壁48を貫いて、下部が培養室3内に延び出している。この廃液装置7は、第6図に示すように、図示しない吸引ポンプに接続された排液チューブ49の一端に上方の基端部が嵌着された排液管51と、この排液管51の上記上方の基端部寄りを固定して同管51を保持する支持部材52と、この支持部材52を内面の一部に固着する駆動ベルト53と、この駆動ベルト53を掛け渡された上下一対のプーリー54a、54bと、下位のプーリー54bを出力軸に取り付けたモーター55と、上記支持部材52に穿設されたガイド孔に挿通して、同部材52の移動を上下方向に規制するガイドバー56と、上記プーリー54a、54bやガイドバー56等を支持する支持板57と、上記排液管51の先端吸引ノズルとなる短円筒チューブで形成されたチップ58を収納するチップ収納器59と、このチップ収納器59を支持する収納器支持板61と、上記チップ収納器59に収納さ

れたチップ58の供給を制御するチップ供給制御装置62と、上記チップ収納器59とチップ供給制御装置62を接続するチップガイドチューブ63と、上記チップ供給制御装置62を駆動するソレノイド64と、上記培養室3の天井壁48を貫通して、同壁48に上端外方突出縁を固定されたガイド管65と、このガイド管65の下端部に取り付けられたチップ挿脱管66とで、その主要部が構成されている。この廃液装置7において、チップ収納器59、チップ供給制御装置62、チップ挿脱管66等が設けられているのは、排液管51の下方先端部を直接シャーレ4中の液に浸漬して排液を行なった場合には、この先端部が異なるシャーレ4中に直接入ることになり、シャーレ4間の相互汚染が生ずるので、排液管51の先端にチップ58を装着して、1回の排液動作ごとにこれを交換するようにしたためである。

上記チップ収納器59は、例えば直径3mm、長さ15mmの短円筒体チューブでなる上記チップ58を多数収納しておくためのものであって、下部が

円錐状の円筒体で形成されており、上端開口部には開閉自在の蓋59aが設けられていると共に、下端開口部は上記チップガイドチューブ63に接続されている。そして、このチップ収納器59は、上記収納器支持板61の上端部に固定されて支持されており、図示しない振動装置により振動を加えられて、薄い支持板61ともども振動して、チップ58を順次チップガイドチューブ63を通じて、チップ供給制御装置62に送り出すようになっている。

上記チップ供給制御装置62は、シリンダー部材67とピストン部材68とで主体が構成されていて、ピストン部材68には、同部材68の移動時に排液管51に衝合しないようにするための遊び孔68aと、チップ58を1つずつ収納して送り出すためのチップ収納孔68bとが、それぞれ上下方向に貫通するように設けられている。そして、ピストン部材68には、伸張性のコイルばね69によって右方への摺動習性が与えられており、右方に向けて移動した位置で、上記シリンダー部材67に取り付けられたチップガイドチューブ63の他端と、チップ収納孔

68bとが対応して、同孔68b内に1つのチップ58が収納されるようになっている。また、上記ソレノイド64に通電すると、同ソレノイド64のブランジャ64aに連結された上記ピストン部材68がばね69の弾力に抗して左方に向けて移動され、上記チップ収納孔68bが上記ガイド管65に穿設されたチップガイド孔65bに対応して、収納したチップ58を上記チップ挿脱管66に供給するようになっている。

上記ガイド管65は、上端部に外方突出縁を有する円筒体で形成されていて、中心孔が上記排液管51を挿通する排液管ガイド孔65aとなっている。また、この排液管ガイド孔65aに平行するように上記チップガイド孔65bが穿設されている。上記チップ挿脱管66は、プラスチック等の弾性変形可能な材質で形成されていて、その管内は、上端部から、円錐部、中径部、小径部の三段に連続して内径が変化している構造となっている。そして、小径部から中径部の中程にかけては、水平断面で見ると十字状の摺割66aが入れられており、さらに、

下方先端部の外方突出縁の上位の外周には、収縮性のリング状コイルばね71が嵌着されている。このため、平生は、ばね71の弾力により、摺割66aが閉じるようになっており、ガイド孔65bを介して供給されたチップ58は、円錐部によって案内されながら中径部に至り、同部で小径部によって位置規制されて待期状態を採るようになっている。

なお、廃液装置7の配設位置は、第4図に示すように、排液管51の下方先端部が上記転送装置6における1つの載置部材42の外周縁部寄りに対応するように定められている。以下、排液管51の対応する載置部材42の位置を、廃液位置と呼ぶことにする。また、排液管51の先端部は、その外周面に段差が形成されていて、先端部がチップ58の内周面に嵌合させやすいようになっていると共に、チップ58が排液管51に対して必要以上に嵌合しないように規制している。さらに、排液管51の外径は、チップ58の外径よりも若干小さくなるように選定されていて、排液管51の上方への復動時に、チップ58の上端面がチップ挿脱管66の下端面に

衝合して、チップ58が自動的に排液管51から脱落するようになっている。

このように構成された廃液装置7によって、上記転送装置6に載置されて廃液位置に移動されたシャーレ4中から不要な液を除去するには、まず、ソレノイド64を駆動して、ピストン部材68を左方に向けて摺動させ、チップ収納孔68bをチップガイド孔65bに対応させて、チップ収納孔68bに落下してあらかじめ収納されていたチップ58を、チップガイド孔65bを通じて自重によりチップ挿脱管66に供給する。すると、チップ58は、平生は摺割66aが閉じた状態にあるので、中径部と小径部との間の傾斜段差面に係合して中径部に停留して待期状態となる。次に、モーター55を駆動して、ベルト53を移動させ、支持部材52を下方に向けて降下させる。すると、同部材52に固定された排液管51と一緒に降下し、その先端部がガイド管65の排液管ガイド孔65a内からチップ挿脱管66内に進入する。そして、中径部位置で待期状態にある上記チップ58に当接し、排液管51の先端細

径部がチップ58の中心孔に嵌合して、排液管51にチップ58が緊密に嵌着される。排液管51が更に降下すると、チップ58が強制的に小径部内に進入し、摺動部材41がばね71の弾力に抗して押し開かれて小径部の内径が大きくなる。従って、排液管51は、小径部に強制的に進入し、チップ挿脱管66の先端部からチップ58を装着した状態で突出して、更に下降を続ける。そして、後述する蓋開閉装置78によって蓋4aを開放された状態にあるシャーレ4の底面壁の外周部寄りにチップ58の先端部を衝合させ、ばね43の弾力に抗して揺動部材41および載置部材42を回動させて、シャーレ4を若干傾斜させた状態で、モーター55が停止されて排液管51の降下が停止される。次に、図示しない吸引ポンプが駆動され、シャーレ4中の液体は、チップ58、排液管51、排液チューブ49を通じて、所定の廃液槽（図示されず）に排出される。この際、シャーレ4がチップ58によって押されて若干傾いた状態となっているので、シャーレ4内の液体はチップ58の先端開口付近に寄り集まってくることに

なり、同液体はシャーレ4内に残留することなく、すべて吸引されて排出される。

上記吸引ポンプが一定時間作動され、シャーレ4中の液体の排出が完了すると、こんどは、モーター55が先程とは反対方向に回転され、排液管51が上方に向けて復動を開始する。すると、まず、チップ58を介して押されていたシャーレ4、載置部材42、揺動部材41が、押圧力を解除されて、ばね43の弾力により水平位置に復帰する。続いて、チップ58の上端面がチップ挿脱管66の下端面に衝合するまで、排液管51が上昇してくると、チップ58は上記衝合によりそれ以上上昇することができなくなり、排液管51だけがチップ挿脱管66内に進入し、チップ58と排液管51との嵌合が外れ、チップ58が自重によって脱落して、培養室3外のチップ保存槽（図示されず）内に自動的に収納される。この際、脱落する使用済のチップ58が、適当なガイド手段によって、シャーレ4中等に落下しないようにされていることはいうまでもない。

上記給液装置8は、シャーレ4中に、洗浄液、

酵素液および培養液の3種類の必要な液体を供給するための装置であって、第1図および第2図に示すように、上記洗浄液、酵素液および培養液をそれぞれ収納する収納容器72a, 72b, 72cと、これら収納容器72a, 72b, 72cを収納して、例えば1℃〜4℃程度の底温で貯蔵する冷却貯蔵槽73と、収納容器72a, 72b, 72c中の各液をシャーレ4に供給するためのローラーポンプ74a, 74b, 74cと、このローラーポンプ74a, 74b, 74cによって送り出される各液を、培養室3の雰囲気温度と同じ温度（例えば37℃）まで加温するための加温器75a, 75b, 75cと、上記各液を給液位置まで導く給液チューブ76a, 76b, 76cとで構成されている。

上記冷却貯蔵槽73は、通常の冷蔵庫と同様に、冷媒の膨張、圧縮時の吸熱・発熱現象を利用して槽内を冷却するものであって、図示しない温度センサーにより槽内温度を検出し、この出力に基づいてコンプレッサー（図示されず）を作動させて、槽内が一定温度となるように制御されている。この冷却貯蔵槽73は、高い温度条件下で酵素液や培

養液を長期間保存した場合には、酵素液中の酵素（例えばトリプシン）が失活したり、培養液中のビタミンやアミノ酸が失活したりするので、これを防止するために上記各液を冷却して保存するように設けられている。

上記ローラーポンプ74a, 74b, 74cは、回転するローラー（図示されず）と、これを送液チューブに押し付けるアーム（図示されず）とで主体が構成された既に周知のものであって、上記ローラーの圧接回転によって送液チューブ中の液体を給送するものである。このローラーポンプ74a, 74b, 74cは、上記ローラーの回転数により、給液量を正確に制御することができるという利点がある。また、上記加温器75a, 75b, 75cは、ヒーター（図示されず）と温度センサー（図示されず）を内蔵していて、上記温度センサーの出力に基づいて上記ヒーターへの通電を制御することにより、同加温器75a, 75b, 75cから流出する液体の温度を培養室3の温度と同様の一定温度まで上昇させる役目をする。この加温器75a, 75b, 75cは、上記冷却貯

蔵槽73で冷却保存された液体を直接培養室3内のシャーレ4に供給した場合には、温度条件の激変によりシャーレ4中の培養細胞が死滅ないしは変成してしまうので、これを防止するために設けられている。

なお、第1図および第4図に示すように、上記給液チューブ76a, 76b, 76cの給液端は、天井壁48を貫通して培養室3内に導き入れられ、上記転送装置6における1つの載置部材42の中央に対応するようになっている。以下、このチューブ76a, 76b, 76cの直下の載置部材42の位置を、給液位置と呼ぶことにする。また、上記収納容器72a, 72b, 72cには、第2図に示すように、0.2 μ 程度の通気用フィルター77a, 77b, 77cがそれぞれ取り付けられており、同容器72a, 72b, 72c内への空気の流入時に雑菌等が混入しないようにして、培養液等の保存および給送が無菌的に行なわれるようになっている。

また、第4図に示すように、上記給液装置8の給液チューブ76a, 76b, 76cの給液端の対応する位

置するように付勢する緊縮性のコイルばね87と、上記左方のアーム部材79の後端部の右側面に固着された強磁性体でなる吸着片88と、上記両アーム部材79, 81が蓋4aを挾持し得る位置(第7図に示す位置)まで回動した状態で、上記吸着片88と対向するように配設された電磁石89とで、構成されている。なお、上記両アーム部材79, 81の先端部寄りの内面がわには、蓋4aを挾持しやすいように、部分円弧状の切欠面79a, 81aがそれぞれ形成されている。また、上記ばね87の弾力によるアーム部材79の回動は、平生は図示しない規制手段によって、両アーム部材79, 81の先端部で蓋4aを挾持するに充分で、かつ、電磁石89による吸着磁力が吸着片88に有効に作用し得る位置に規制されている。

このように構成された蓋開閉装置78によってシャーレ4の蓋4aを開放する場合には、まず、モーター84に通電して同モーター84を反時計方向に回転させ、出力歯車83を通じて駆動歯車82を支軸82aの周りに時計方向に回転させる。すると、平生は起立位置に置かれているアーム部材81が、駆

置、即ち給液位置と、上記廃液装置7の排液管51の先端が対応する位置、即ち廃液位置とに、それぞれ移動された転送装置6のシャーレ載置部37の後方向の外方位置には、給液および廃液時にシャーレ4の蓋4aを開閉するための蓋開閉装置78がそれぞれ配設されている。この蓋開閉装置78は、第7図に示すように、シャーレ4の蓋4aを両側面から挾持するための左右一対のアーム部材79, 81と、右方のアーム部材81の基部を一体的に固着した駆動歯車82と、この駆動歯車82に噛合された出力歯車83を出力軸に取り付けたモーター84と、上記右方のアーム部材81の基部寄りの上面に一端部を固着されていて、同部材81とは直交する左方に向けて他端部が延長された連結部材85と、この連結部材85の他端部に植設されていて、上記左方のアーム部材79の中程を揺動自在に枢着する支軸86と、上記アーム部材79, 81の先端部寄りに掛け渡されていて、左方のアーム部材79の先端部が右方のアーム部材81の先端部に近寄るように、左方のアーム部材79を支軸86の周りに時計方向に回動

動歯車82と共に時計方向に回動される。また、連結部材85を介してアーム部材79もアーム部材81と一緒に起立位置から水平位置に向けて移動される。そして、両アーム部材79, 81が水平位置となる直前の段階で、こんどは電磁石89に通電が開始される。すると、電磁石89に対向する位置まで移動してきていた吸着片88が電磁石89に吸引され、アーム部材79がばね87の弾力に抗して支軸86の周りを反時計方向に回動されて、アーム部材79の先端部は、蓋4aの上面と衝合する位置から側方に退避する。そして、モーター84の回転の続行によりアーム部材79, 81が水平位置まで移動すると、モーター84への通電が断たれて、アーム部材79, 81が水平状態で停止されると共に、電磁石89への通電も断たれる。すると、電磁石89の吸着磁力による拘束を解除されたアーム部材79は、ばね87の弾力により支軸86の周りを時計方向に回動し、アーム部材79, 81の両切欠面79a, 81aで蓋4aの両側面を挟み付けて、同蓋4aを挾持する。この際、前記転送装置6の載置部材42の突縁42aとシャー

レ4との間には若干の間隙があるので、蓋4aはシャーレ4ともども若干移動して、両アーム部材79, 81によってしっかりと挟持される。蓋4aがアーム部材79, 81に挟持された後、再びモーター84に通電が行なわれ、こんどは先程とは反対の時計方向に回転される。すると、出力歯車83を介して駆動歯車82が反時計方向に回転され、両アーム部材79, 81が蓋4aを挟持した状態で一体に反時計方向に回転する。両アーム部材79, 81が起立位置まで復帰すると、モーター84への通電が断たれて同モーター84が停止し、蓋4aの開放動作が完了する。

次に、開放した蓋4aを再びシャーレ4に被せて閉成する場合には、まず、開放動作のときと同様に、モーター84に通電して同モーター84を反時計方向に回転させ、出力歯車83を介して駆動歯車82を時計方向に回転させる。すると、両アーム部材79, 81が水平位置に向けて移動するので、水平位置に達した時点でモーター84を停止させると、両アーム部材79, 81は、挟持する蓋4aをシャーレ4に被せた状態でその移動を停止する。次に、電

磁石89を励磁させると、同電磁石89に対向する位置にある吸着片88が吸引され、アーム部材79がばね87の弾力に抗して、支軸86の周りを反時計方向に回転されて、アーム部材79の先端部が蓋4aの側面と当接する位置から側方に退避する。続いて、モーター84を先程とは反対の時計方向に回転させれば、両アーム部材79, 81が蓋4aを挟持することなく起立位置に向けて移動を開始する。そこで、両アーム部材79, 81が蓋4aを再び挟持し得なくなる位置まで移動した時点で電磁石89を消磁させれば、アーム部材79がばね87の弾力により支軸86の周りを時計方向に回転され、図示しない規制手段によって、所定位置で停止される。そして、両アーム部材79, 81が起立位置まで復帰した時点で、モーター84の回転を停止させれば、蓋4aの閉成動作が完了する。

上記剥離装置9は、第1図および第4図に示すように、培養室3内の上記転送装置6の一側方に配設されていて、第8図に示すように、図示しない電源装置から断続的に電流を通電されて振動を

発生するソレノイド91と、このソレノイド91を支持する支持部材92と、上記ソレノイド91のブランジャ91aの先端部に取り付けられた叩打部材93と、上記支持部材92に固着されて上記転送装置6上に載置されたシャーレ4の直上に位置するシャーレ押え部材94とで構成されている。この剥離装置9は、後に詳述する分注装置11による攪拌操作だけでは、酵素処理後の培養細胞をシャーレ4の生育面から充分に剥離させることが難しいので、シャーレ4に横方向からの振動を加え、細胞を生育面から確実に剥離させるために、設けられている。

上記支持部材92は、側方から見てクランク状に折り曲げられており、基端部が上記基板33に固着されている。そして、支持部材92の、垂直方向の中間部に上記ソレノイド91が取り付けられている。このソレノイド91は、支持部材92に穿設された開孔92aにブランジャ91aを貫通させた状態で、このブランジャ91aの先端部が転送装置6上のシャーレ4の一側面に向うように支持部材92に固定

されており、ブランジャ91aの先端部には、プラスチック、ゴム等のシャーレ4に当たってもシャーレ4を破損しない材質でできた上記叩打部材93が取り付けられている。また、支持部材92の先端部は、水平にシャーレ4の上位にまで延び出しており、その下面にプラスチック、ゴム等の材質で形成された上記シャーレ押え部材94が固着されている。なお、上記ソレノイド91には、調整用のビス91bが設けられていて、このビス91bを回転調節することにより、シャーレ4に加えられる振動力を調整することができるようになっている。

このように構成された剥離装置9によってシャーレ4に振動を加え、細胞を剥離させるためには、まず、ソレノイド91に断続的に電流を通電する。すると、ブランジャ91aが電流の通電周期で左右方向に往復移動し、左方に往動した位置で叩打部材93の先端部によってシャーレ4の側面ないしは蓋4aの側面を叩く。このため、シャーレ4は載置部材42の突縁42aによって移動を許容される範囲で急激に、かつ、周期的に振動する。この振動に

より、シャーレ4内で生育面である底面から遊離状態にある培養細胞が次第に剥離され、約1分間ほど振動を加え続けられ、培養細胞が完全に底面から剥離される。この剥離動作の際、振動により蓋4aがシャーレ4から外れる方向の力を受けることもあるが、蓋4aの直上に押え部材94があるので、蓋4aが外れるおそれはない。従って、剥離された培養細胞が、シャーレ4外に飛び出すおそれもない。

上記分注装置11は、第1図に示すように、本体部が上記機械室47内に配設されていて、培養室3の天井壁48を貫通して分注操作部が培養室3内に延び出している。この分注装置11は、シャーレ4中の培養液を、ビベット97(第9図参照)により複数回吸引・排出を繰り返すことによって攪拌したり、後に詳述するシャーレ供給装置12から供給された新しい複数のシャーレ4に分注したりする役目をするもので、同装置11には、ビベット供給装置95およびビベット離脱装置96が付設されている。このように、ビベット供給装置95およびビ

ベット離脱装置96を付設したのは、1つのビベット97で複数のシャーレ4中の培養液の攪拌、分注を行なった場合には、シャーレ4間で相互汚染が生ずるおそれもあるので1つのシャーレ4中の培養液に対する攪拌、分注操作を行ったごとにビベット97を交換するようにしたためである。

上記分注装置11は、第9図に示すように、吸引端98aにビベット97を装着されるペローズポンプ98と、このペローズポンプ98を自由端部に載置するように取り付けられた回転アーム99と、この回転アーム99の基部を底面に固着する回転摺動軸101と、この回転摺動軸101を回転および摺動自在に支持する軸受部材102と、上記回転摺動軸101の上端部寄りに取り付けられた駆動歯車103と、この駆動歯車103に噛合された出力歯車104と、この出力歯車104を出力軸に固定した回転駆動用モーター105と、上記回転摺動軸101の上端部にブランジャ106aを連結させた摺動用ソレノイド106と、上記ブランジャ106aに巻装されていて、上記回転摺動軸101を下方に向けて付勢する伸張性

のコイルばね107とで、その主要部が構成されている。

上記ペローズポンプ98は、既に周知のものであって、短円柱体の外形を有しており、その下端面の中央位置からは、管状の吸引端98aが下方に向けて突設されている。そして、この吸引端98aの中程には銑部98cが設けられていて、この銑部98cとポンプ98との間には、伸張性のコイルばね108が巻装されている。このコイルばね108は、第11図に示すように、ペローズポンプ98が回転アーム99の先端部に設けられた切込99aに吸引端98aを嵌入させることによって、回転アーム99に着脱自在となるように配設されるので、切込99aに吸引端98aの基部部を嵌合させて、ペローズポンプ98を回転アーム99の先端部に装着した際に、回転アーム99と銑部98cとを相離れる方向に付勢して、ペローズポンプ98を回転アーム99にしっかりと固定する役目をする。また、吸引端98aへのビベット97の嵌合時に、吸引端98aがばね108の弾力に抗して移動できるようにして、吸引端98a

とビベット97との嵌合力を一定にする役目もする。このようにペローズポンプ98を着脱自在に配設したのは、ペローズポンプ98を単独で取り外して殺菌できるようにしたためである。なお、吸引端98aの先端部は、ビベット97に嵌合しやすいように、先端に行くほど細径となるテーパ状に加工されている。

第9図に戻って上記軸受部材102は、上端部に銑部を有する円筒体で形成されていて、培養室3の天井壁48に穿設された貫通孔に嵌合され、上記銑部で抜け止めされて、天井壁48に固定されている。この軸受部材102は、内周面の上下端部寄りにボールベアリング機構109を備えていて、円柱体でなる上記回転摺動軸101を嵌合して、これを回転および摺動自在に支持している。また、上記出力歯車104は、駆動歯車103に比べて、噛合面が幅広に形成されていて、回転摺動軸101が上下方向へ移動しても、常に出力歯車104と駆動歯車103との噛合状態が維持されるようになっている。さらに、上記ソレノイド106やモーター105は、

ハウジング 111 内に収納されていて、このハウジング 111 またはこれと一体の基板 111a に固定されている。

なお、特に図示しなかったが、この分注装置 11 には、いくつかの位置検出センサーが設けられていて、回転アーム 99 の回動位置が適正な所定位置に自動的に制御されるようになっている。また、第 4 図に示すように、上記回転アーム 99 が最も時計方向に回動した位置では、ペローズポンプ 98 の吸引端 98a は、転送装置 6 の 1 つの載置部材 42 の外周縁部寄りに対応するようになっている。以下、このペローズポンプ 98 の吸引端 98a が対応する載置部材 42 の位置、または、載置部材 42 に対応するペローズポンプ 98 の位置を分注位置と呼ぶことにする。また、この分注位置にある転送装置 6 の載置部材 42 に対応する径方向の外方位置には、前記給液位置および廃液位置に対応するように配置されていたものと同じ蓋開閉装置 78 が配設されている。この蓋開閉装置 78 が、攪拌操作時ないしは分注操作時に、シャーレ 4 から蓋 4a を開放し、こ

れたハウジング 117 と、このハウジング 117 の底面壁の下面に図示しない案内手段によって気密的に摺動自在となるように配設されていて、上記貫通孔 117a と対応する開孔 118a が穿設されたシャッター板 118 と、このシャッター板 118 に一端が連結されたシャッター駆動レバー 119 と、このシャッター駆動レバー 119 の他端部にブランジャ 121a が連結されたシャッター駆動用ソレノイド 121 と、上記貫通孔 117a と対応する培養室 3 内の位置に配設されたビベット受け部材 122 (第 11 図参照) と、このビベット受け部材 122 の更に下に配置された衝撃吸収用のコイルばね 123 (第 11 図参照) とで、その主要部が構成されている。

上記ビベット収納用切欠 113a は、上記ビベット 97 の外径よりもやや大きな内径の縦孔の内周面に、キー溝状の縦溝を、回転円板 113 の径の内外方向に対応する位置に対称となるように穿設し、外径方向の縦溝を円板 113 の外周にまで連通させた形状を有しており、この切欠 113a の周りの、円板 113 の上面の一部には、ビベット 97 の上端部の

これらの操作終了時にシャーレ 4 に再び蓋 4a を閉成する役目をするとは云うまでもない。

上記ビベット供給装置 95 は、第 1 図および第 2 図に示すように、その本体部が上記機械室 47 の後部右端寄りに配設されていて、上記分注装置 11 にビベット 97 を 1 つずつ供給するようになっている。このビベット供給装置 95 は、第 10 図に示すように、回転軸 112 に中心部を固定されていて、外周縁部に等間隔に複数のビベット収納用切欠 113a が形成された回転円板 113 と、上記ビベット収納用切欠 113a に収納されて保持されたビベット 97 に係合して、これを切欠 113a から落下させるビベット供給用レバー 114 と、このビベット供給用レバー 114 を非供給位置に退避させるためのソレノイド 115 と、上記ビベット供給用レバー 114 を供給位置に向けて付勢する振りばね 116 と、上記回転円板 113、ビベット供給用レバー 114 等を収納していて、底面壁の一部にビベット通過用の貫通孔 117a が、上記培養室 3 の天井壁 48 に穿設された開孔 (図示されず) と対応するように穿設さ

対称位置に突設された係止用突起 97a と係合する浅い凹陷部 113b が形成されている。この凹陷部 113b は、回転円板 113 の中心から見て、外径方向の縦溝に対して右側方に、内径方向の縦溝に対しては左側方に、それぞれ対称的に設けられている。この凹陷部 113b は、上記切欠 113a に上方から挿入されて、突起 97a を凹陷部 113b に係合されて収納位置に保持されたビベット 97 が妄りに移動しないように規制する役目をする。

上記ビベット供給用レバー 114 は、L 字状の板体で形成されていて、支軸 124 によって揺動自在に軸支されており、同支軸 124 に巻装され、一端をレバー 114 の一端に、他端をストッパピン 125 に、それぞれ係止された閉脚習性を有する振りばね 116 によって、支軸 124 の周りを時計方向に回動する習性が与えられている。この習性によるレバー 114 の回動は、平生は、レバー 114 の他端がソレノイド 115 のブランジャ 115a の先端に衝合することによって規制されている。そして、この規制位置では、レバー 114 の一端部の一方

に突設されたビベット係合部 114a が、切欠 113a に収納されたビベット 97 との係合位置から退避している。また、上記ソレノイド 115 に通電を行なうと、ブランジャ 115a がソレノイド 115 内に引き込まれるので、レバー 114 はばね 116 の弾力により支軸 124 の周りを時計方向に回転し、一腕の側面をストッパーピン 125 に衝合させて、上記ビベット係合部 114a がビベット 97 の突起 97a と係合可能な係合位置まで移動するようになっている。

上記シャッター駆動レバー 119 は、支軸 126 に揺動自在に軸支されていて、一腕端に穿設された長孔 119a をシャッター板 118 に直立されたピン 127 に嵌入させて、シャッター板 118 に連結されている。また、他腕端に穿設された長孔 119b を、ブランジャ 121a に植設されたピン 128 に嵌入させて、ソレノイド 121 に連結されている。このシャッター駆動レバー 119 は、ソレノイド 121 に通電を行なうと、ブランジャ 121a がソレノイド 121 内に引き込まれ、支軸 126 の周りに時計方向に回転して、シャッター板 118 をその開孔 118a がハ

ウジング 117 の貫通孔 117a と一致する位置まで揺動させるようになっている。そして、両孔 117a、118a が一致することにより、上記レバー 114 によって既に切欠 113a 内に落し込まれていたビベット 97 は、両孔 117a、118a および天井壁 48 の貫通孔を通して、培養室 3 内に落下するようになっている。この後、ソレノイド 121 への通電が断たれることにより、同ソレノイド 121 内からブランジャ 121a が突出して、シャッター板 118 は自動的に閉成位置に復帰する。

上記ビベット受け部材 122 は、第 11 図に示すように、ビベット 97 の外径よりやや大きな内径を有する、縦方向に 2 つ割りにした円筒体で形成されていて、その上記分注位置がわの半部 122a は、支軸 122b によって開閉自在となるよう配設されており、平生は、図示しない弾性手段によって支軸 122b の周りを反時計方向に回転する習性を与えられて、他方の半部に衝接して停止している。このビベット受け部材 122 は、ビベット受け位置に配設されていて、上記ハウジング 117 内から培養

室 3 内に落下してくるビベット 97 を、適当なガイド手段を介して、あるいは介することなしに、その中央孔に嵌入させ、ビベットの突起 97a を上端開口周縁に衝合させて保持するようになっている。また、上記コイルばね 123 は、ビベット 97 の外径よりも細めに巻回されて形成されていて、落下しながらビベット受け部材 122 に嵌入するビベット 97 の下端部を嵌合させ、このとき若干巻径を太らせながら、ビベット 97 の落下による衝撃を吸収して、ビベット受け部材 122 にビベット 97 を緩衝的に係止させ、ビベット 97 の跳ね返りを防止する役目をする。上記ビベット受け部材 122 が配置されたビベット受け位置は、第 12 図に示すように、上記ペローズポンプ 98 の回転軌跡上に対応していて、分注装置 11 がペローズポンプ 98 をビベット受け位置まで回転させ、回転揺動軸 101 を降下させると、ポンプ 98 の吸引端 98a が、ビベット受け部材 122 に受けられて位置決めされたビベット 97 の上端開口に嵌入して、吸引端 98a にビベット 97 が装着されるようになっている。そして、回転揺

動軸 101 を上方に向けて復動させた後、同軸 101 を反時計方向に回転させて、ペローズポンプ 98 を分注位置に向けて移動させれば、吸引端 98a に装着されたビベット 97 によって、ビベット受け部材 122 の半部 122a が押し動かされて支軸 122b を中心として回転して開き、ビベット 97 がペローズポンプ 98 に装着された状態で分注位置に取り出される。そして、上記半部 122a は、図示しない弾性手段の弾力によって支軸 122b の周りを回転して、再び他の半部に衝接するビベット受け状態に復帰する。

一方、上記ビベット離脱装置 96 は、第 1 図に示すように、培養室 3 内に設けられていて、第 11 図に示すように、回転軸 131 と、この回転軸 131 に固定されたカムレバー 132 と、このカムレバー 132 に一端が係着されていて、同レバー 132 に回転軸 131 を中心として時計方向に回転する習性を与える緊縮性のコイルばね 133 と、このコイルばね 133 の弾力によるカムレバー 132 の回転を所定のビベット離脱位置に規制するストッパーピン 134

(第12図参照)とで構成されている。

上記カムレバー132には、回転軸131から大きく延び出した一端端に、上記ペローズポンプ98の銜部98cとビベット97との間に嵌入して両者を引き離すための一对の楔型カム部132a,132bと、この引き離しが完了した後に、ペローズポンプ98の吸引端98aを通過させるための切欠132cとが形成されている。上記楔型カム部132a,132bは、上記吸引端98aの移動を妨げないように、一旦立ち上げられた後再び径方向に延び出すようにして形成されており、一方のカム部132aには、上記ストッパービン134と衝合するための壁部132dが一体に形成されている。また、上記切欠132cは、両カム部132a,132b間に縦方向に形成されており、カムレバー132がストッパービン134に係合した平生位置では、第12図に示すように、上記ペローズポンプ98の吸引端98aの回転軌跡上に対応している。なお、上記回転軸131は、図示しないロータリーソレノイド等によって、ばね133の弾力に抗して反時計方向に一定角度回転す

るようになっていて、上記一定角度回転した際には、カムレバー132をペローズポンプ98の回転軌跡中から退避させるようになっている。

このように構成されたビベット離脱装置96は、分注装置11が使用済のビベット97を廃棄するために、分注位置からビベット受け位置に向けてペローズポンプ98を回転させる際には、カムレバー132がストッパービン134に係合するビベット離脱位置にある。従って、ペローズポンプ98がビベット97を装着した状態でカムレバー132の先端位置まで回転してくると、楔型カム部132a,132b間にポンプ98の吸引端98aが嵌入し、銜部98cがカム部132a,132bの上斜面に当接すると共に、ビベット97の上端面がカム部132a,132bの下面に当接するようになる。そして、この状態からペローズポンプ98が更に回転すると、銜部98cがカム部132a,132bの上斜面によって押し上げられ、銜部98cとビベット97との間が押し広げられる。このため、吸引端98aに嵌着されていたビベット97は、吸引端98aより外れ、自重によって下方に向けて

落下し、ビベット97の離脱が行なわれる。この落下したビベット97は、下方に配設されたビベットガイド部材(図示されず)を通して、培養室3外に設けられたビベット保存槽(図示されず)に導びかれ保存される。このようにして保存されたビベット97は、後にまとめて回収され、洗浄、殺菌後、再使用される。なお、上記ビベット保存槽と培養室3との間には、両者間の通気によって培養室3内が汚染されるのを防止するため、シリコンゴム製の薄膜フィルター等なる防塵、防菌フィルターが設けられている。また、ペローズポンプ98は、使用済のビベット97を離脱した後、更に回転を続けてビベット受け位置まで一旦移動し、しかる後、回転摺動軸101の回転方向の反転により、再び分注位置まで復動して、次のビベット装着動作時まで待機状態となる。

次に、分注装置11が新しいビベット97を装着した状態でペローズポンプ98を分注位置に復動させる際には、ビベット離脱装置96は、回転軸131を反時計方向に回転させ、ばね133の弾力に抗し

て、カムレバー132を回転させて、ペローズポンプ98の回転軌跡中から退避させる。このため、ペローズポンプ98はカムレバー132にぶつかることなく、ビベット97を装着した状態で分注位置まで復動し、カムレバー132はこの後回転軸131の回転力を取り除かれて、ばね133の弾力により、ストッパービン134に衝合するビベット離脱位置まで復帰する。

上記シャーレ供給装置12は、第1図および第2図に示すように、上記機械室47の後部中程に本体部が配設されていて、この本体部よりシャーレガイド用のシューター135が培養室3内に延び出すように形成されている。上記シャーレ供給装置12の本体部は、第1,13図に示すように、殺菌したシャーレ4を斜めに積み上げて収納しておくためのシャーレ収納部136と、このシャーレ収納部136の下端部に連通していて、同部136からシャーレ4を1つずつ取り出して上記シューター135に送り出す円形転送部137と、この円形転送部137を取り囲んでいて、底面壁が上記円形転送部

137の底面壁を兼ねるハウジング138と、上記円形転送部137の中心に設けられた回転軸139と、この回転軸139に基部を固定されていて、自由端部がシャーレ4に当ってこれを押し動かす回動アーム141と、上記円形転送部137の、上記シャーレ収納部136とほぼ対向する位置の底面壁に穿設されたシャーレ送り出し用の開孔137aと、上記ハウジング138の底面壁の下面に図示しない案内手段によって気密的に揺動自在となるように配設されていて、上記開孔137aに対応する開孔142aが穿設されたシャッター板142と、このシャッター板142に一端端が連結されたシャッター駆動レバー143と、このシャッター駆動レバー143の他端端にブランジャ144aが連結されたシャッター駆動用ソレノイド144とで、その主要部が構成されている。

上記シャーレガイド用シューター135は、その横断面の形状がシャーレ4を通過させる横長の四角形状に形成された管体で構成されていて、滑り台の如く緩やかに彎曲しながら、天井壁48を貫通

内に送り出されるようになっている。上記回動アーム141は、自由端部が円形転送部137の周壁に向けて延び出していて、その回動方向の一方方には上記収納部136より送り出されたシャーレ4を引っ掛けるための爪部141aが形成されている。この回動アーム141は、回転軸139が図示しないモーター等によって反時計方向に回転されると、これによって反時計方向に回動し、収納部136より送り出されたシャーレ4を引っ掛けて、円形転送部137の内周壁に沿って押し動かしながら、シャーレ4を一旦開孔137aの手前の待期位置まで移動させて停止する。そして、シャーレ供給時になると、再び反時計方向への回動を開始して、開孔137aおよび上記回動に同期して同開孔137aに対応するように移動したシャッター板142の開孔142aを通じて、シャーレ4をシューター135に供給するようになっている。

上記シャッター駆動レバー143は、支軸145に揺動自在に軸支されていて、一端端に穿設された長孔143aをシャッター板142に植立されたピン

して、機械室47内から培養室3に向けて延び出しており、その上端のシャーレ送入口が開口135aは、上記ハウジング138の底面壁に穿設された開孔137aに、上記シャッター板142がスライドできるだけの間隙を介して対向している。また、第4図に示すように、下端のシャーレ送出口が開口135bは、上記転送装置6における1つの載置部材42の上位に対応していて、シューター135を通じて開口135bに達したシャーレ4は、自重によって載置部材42上に落下し、同部材42に載置されるようになっている。以下、この開口135bの直下の載置部材42の位置を、シャーレ供給位置と呼ぶことにする。

上記シャーレ収納部136は、既述したようにシャーレ4を斜めに積み上げて収納するようになっており、同部136より円形転送部137に送り出されたシャーレ4が第13図に示すように、回動アーム141によって押し動かされて移動されると、上位に積み上げられたシャーレ4の自重により、最下位にあるシャーレ4が自動的に円形転送部137

130に嵌入させて、同板142に連結されている。また、他端端に穿設された長孔143bに、ブランジャ144aに植設されたピン146を嵌入させて、ソレノイド144に連結されている。このシャッター駆動レバー143は、ソレノイド144に通電を行なうと、同ソレノイド144内からブランジャ144aが突出して、これにより支軸145の周りに反時計方向に回動し、シャッター板142を、その開孔142aがハウジング138の開孔137aと一致する位置まで摺動させるようになっている。両孔137a,142aが一致した状態で、上記回動アーム141によって押し動かされてきたシャーレ4が、両孔137a,142aを通じてシューター135内に落下することはいうまでもない。シャッター板142は、ソレノイド144への通電を解除すると、同ソレノイド144内にブランジャ144aが引き込まれ、自動的にシャッター閉成位置に復動する。

このように構成されたシャーレ供給装置12によれば、回動アーム141が1回転するごとに、収納部136内に積み上げられたシャーレ4が1つつ

円形転送部 137 に取り出されると共に、開孔 137a および 142a を通じてシャーレ 4 が 1 つずつシューター 135 に送り出される。よって、転送装置 6 の載置部材 42 上にシャーレ 4 が 1 つずつ自動的に供給されることになる。

上記観察装置 14 は、第 1 図および第 2 図に示すように、筐体 2 の右側壁の前部寄りに、接眼部を外部に突出させ、対物部および光源部を培養室 3 内に収納させて配設された顕微鏡でなっていて、光源部を対物部に対して上位に置いた、いわゆる倒立形に形成されている。上記接眼部は、通常の顕微鏡と同様に形成されているのに対して、対物部は、外部から対物レンズ 147 を焦点合せのために移動させなければならないので、対物レンズ 147 の駆動機構が電動式に形成されている。即ち、この対物レンズ 147 の駆動機構は、第 15 図に詳しく示すように、対物レンズ 147 を上端内周面部に装着して、上端部寄りに形成された外向鏢部の外周面にヘリコイド雄ねじ 148a が刻設され、かつ、下部外周面の一部に光軸方向の案内用長孔

148b が穿設された光軸摺動筒 148 と、この光軸摺動筒 148 の下部外周に嵌合して、下端部を顕微鏡の不動枠体 149 (第 14 図参照) に固定された軸受筒 151 と、この軸受筒 151 の外周面に穿設された凹部内に頭部を収納されて同筒 151 に螺入されていて、その先端部を上記光軸摺動筒 148 の案内用長孔 148b 内に嵌入させたガイドピン 152 と、上記軸受筒 151 の外周にボールベアリング機構 153 を介して下部内周面に回転自在に嵌合されていて、上部内周面に螺刻されたヘリコイド雌ねじ 154a が上記光軸摺動筒 148 のヘリコイド雄ねじ 148a に螺合され、かつ、上端外周の外向鏢部の外周面に歯車 154b が刻設された回転筒 154 と、この回転筒 154 の歯車 154b に噛合された出力歯車 155 と、この出力歯車 155 を出力軸に取り付けたモーター 156 とで、その主要部が構成されている。

なお、上記対物レンズ 147 の鏡胴の側周面には、同レンズ 147 の作動範囲を示す、光吸収体となる指標 140 が塗設されていて、同指標 140 と対向するように光学センサー 150 が設けられている。

この光学センサー 150 は、同センサー 150 と対向する位置に指標 140 があるか否かを検出し、指標 140 が検出されない場合には、対物レンズ 147 が作動範囲外にあるので、ブザー (図示されず) による警告を発生させたり、対物レンズ駆動用の上記モーター 156 の回転を停止させたりするようになっている。また、上記モーター 156 は、外部に設けられたスイッチ部材 (図示されず) の操作により、正逆いずれの方向にも回転可能となっている。

上記対物レンズ 147 は、上記シャーレ転送装置 6 における 1 つの載置部材 42 の直下に位置するように配設されており、第 4 図に示すように、光軸はその載置部材 42 の中心軸とほぼ一致するようになっている。以下、この対物レンズ 147 の真上の載置部材 42 の位置を、観察位置と呼ぶことにする。従って、観察位置にある載置部材 42 に載置されたシャーレ 4 中の培養細胞を、対物レンズ 147 を通じて下面がわから観察することができるようになっている。

なお、第 1, 2 図中、符号 157 は接眼レンズを、また第 14 図中、符号 158 は対物レンズ 147 と接眼レンズ 157 とを光学的に連結するリレー光学系を、それぞれ示している。さらに、特に図示しなかったが、培養室 3 内が高湿状態に保たれているので、観察装置 14 の対物部は、各部材の接合部に O リング、パッキング等を多用した防湿構造に形成されている。

このように構成された観察装置 14 の対物部によって、対物レンズ 147 の焦点合せを行なうには、外部のスイッチ部材を操作してモーター 156 を時計方向または反時計方向に回転させる。すると、出力歯車 155 を介して、回転筒 154 が反時計方向または時計方向に回転され、ピン 152 と長孔 148b とによって回転を規制された光軸摺動筒 148 が、ヘリコイド雌 154a および雄ねじ 148a の作用により、光軸方向に進退する。よって、接眼レンズ 157 から透明体のシャーレ 4 中の培養細胞 10 を観察しながら、ちょうど焦点の合ったところで上記スイッチ部材を操作してモーター 156 の回転を停止

させればよい。なお、フォーカシングの方向を誤って、対物レンズ147が作動許容範囲から外れた場合には、光学センサー150が指標140の検出をしなくなるので、警告ないしはモーター156の自動停止が行なわれる。従って、対物レンズ147の対物面がシャーレ4等にぶつかって、シャーレ4等が破損したり、レンズに傷が付いたりするおそれはない。

一方、観察装置14の照明光源部は、第14図に示すように、防湿構造となっている外套筒159内に光源ランプ161およびコンデンサーレンズ162を収納した照明装置160で形成されていて、前記天井壁48に穿設された貫通孔に外套筒159を嵌合させ、同筒159の上端部をビス163によって天井壁48に固定されて、培養室3内に垂下するように配設されている。この照明装置160の光軸が、上記対物レンズ147の光軸と一致するようになっていることは云うまでもない。また、上記外套筒159の下端開口部には、円環状の押え部材166と、リング状のバックアップ部材165とを介して防湿

ガラス板164が嵌め込まれていて、照明光の射出に支障がないようになっている。さらに、この照明装置160においては、特に図示しなかったが、フィルター等の交換が機械室47がわから行なえるようになっている、培養室3内の雰囲気を乱すことなく、照明光の調整ができるようになっている。

なお、観察装置14は、照明装置160中に絞りリングを、観察光学系中に位相板を、それぞれ配設していて、位相差顕微鏡としても使用できるようになっている。また、接眼部には、写真撮影用の光学系が付設されるようになっていて、シャーレ4を培養室3外に取り出すことなしに同シャーレ4中の培養細胞の写真撮影が行なえるようになっている。

ところで、上記培養室3には、特に図示しなかったが、培養室3内を加温、加湿するための加温・加湿装置、培養室3内を所定温度に保つための予備保温装置、培養室3内の細胞培地のpHを適正値(約7.2)に保つための炭酸ガス・空気供給装置、培養室3内を滅菌する紫外線殺菌装置および

培養室3内の空気の清浄化を行なうためのクリーンエアー送風装置が、それぞれ付設されている。

上記加温・加湿装置は、加湿用の水を蓄える水槽と、この水槽中の水を加熱するヒーターと、上記水槽中の水の温度を検出する温度センサーと、この温度センサーの出力に基づいてヒーターへの通電を制御して、水温を一定(例えば、37℃)に保つ温度調節器と、水槽上部の湿った空気を培養室3に送り込む送風機と、加温・加湿装置と培養室3を接続する送風パイプとで構成されている。この装置は、注水口よりそそぎ込まれた水を水槽に蓄え、これをヒーターによって加温して、正確に例えば37℃(±0.1℃以内)に保つ。そして、水槽上方の湿った暖い空気を送風機によって送風パイプを通じて培養室3内に送り込むと同時に、培養室3内の空気を水槽中に還流させて、培養室3内を加温すると共に加湿する。

上記予備保温装置は、培養室3の内周面部または外周面部にむらなく配設されたヒーターと、このヒーターの温度を検出して、これをコントロー

ルする温度調節器とで構成されていて、培養室3内を周囲より目的温度(例えば37℃)に近く、かつ、これよりも低い温度(例えば35℃)に加温する。このように培養室3をあらかじめ加温しておくことにより、上記加温・加湿装置による培養室3内の空気流にむらがあっても、場所によって温度が大きく相異してくるという不具合を防止することができる。

上記炭酸ガス・空気供給装置は、培養室3内のガス雰囲気中の炭酸ガス濃度を一定にして、細胞培地であるシャーレ4中の培養液のpHを適正値(約7.2)に保つためのものであって、炭酸ガスを封入したボンベと、外部から空気を採り入れるエアーポンプと、ガスの流量を計測するガス流量計と、ガスの流量を制御する電磁バルブと、これらを接続する送気パイプとで構成されている。この装置は、ボンベより適当な圧力にレギュレートされて取り出された炭酸ガスと、空気取入口を通じてエアーポンプにより外部から採り入れられた空気とを、適当な割合(炭酸ガス5%, 空気95%)

に混合し、これを培養室3内へと送り込むようになっている。

上記紫外線殺菌装置は、培養室3内が汚染されているか、もしくは、汚染してしまったときに、紫外線ランプを点灯させ、照射される紫外線によって雑菌類を滅菌するためのものであり、紫外線ランプと同ランプの点滅を制御するための操作スイッチとで構成されている。ところで、紫外線による滅菌方法は、直接紫外線が照射されない所は滅菌されないという欠点を有しているが、本自動培養装置1の場合には、培養室3の内壁面や同室3内に配設される装置類の表面を極力ステンレス等の研磨面とし、これらの鏡面作用により、装置類の裏側へも紫外線が反射されて照射されるようにして、より広範囲に滅菌が行なえるように工夫がなされている。

上記クリーンエア送風装置は、高圧送風器と高性能のフィルターで構成されていて、培養室3内に外部より無菌の風を送り込む（例えば、 $150 \text{ } \phi_{\text{min}}$ 以上）ことによって、培養室3内の乾燥と

その下位には、培養室3内の温度を調整するための温度調節用ノブ169が配設されている。さらに、その下位には、本自動培養装置1の作動を制御するための各種の操作部材171が複数個列設されている。

上記演算処理装置には、シャーレ4の搬入・搬出プログラム、廃液プログラム、給液プログラム、攪拌プログラム、分注プログラム等の各種プログラムがプログラミングされていて、本自動培養装置1はこれらプログラムに基づいて、自動培養に必要とされる一連の動作を制御されるようになっている。即ち、既述した各種装置類に組み込まれたモーターやソレノイドを駆動したり、センサーの出力を読み取ったり、ヒーターへの通電を行ったりして、自動培養装置1が自動的に細胞の継代培養において必要とされる一連の動作を遂行するようになっている。

以上のように、本発明の細胞の自動培養装置1は構成されている。

次に、この自動培養装置1の動作について、本

清浄化とを行なうものである。本装置は、細胞の非培養時に適時作動されて培養室3内をあらかじめ浄化しておくために用いられる。

また、上記培養室3内の前面壁は、同室3内を外部から肉眼で直接観察できるようにガラス張りとなっている。しかし、凝結を防ぐために、さらにその前面を蔽うように開閉自在の外扉が設けられている。この外扉には、ヒーターと湿度センサーとが取り付けられていて、外扉は培養室3内よりやや高い37℃～40℃程度に加温されている。この加温により、内側にあるガラス窓の温度が低下するのを防いでいる。

上記制御装置13は、第1図に示すように、筐体2の前面左側部に設けられた表示兼操作パネル167内に組み込まれたマイクロコンピュータ等となる演算処理装置や、この演算処理装置に付帯する入出力装置、電源装置等で構成されている。上記表示兼操作パネル167には、その前面上部に液晶表示板等となる、培養室3内の温度を表示するための温度表示部168が設けられており、また、

発明の細胞の自動培養方法の一実施例と共に、第16図に示すフローチャートを参照しながら説明する。

まず、自動培養装置1の電源スイッチ（図示されず）を操作して、同装置1を作動状態にすると、加温・加湿装置、予備保温装置、炭酸ガス・空気供給装置等が作動して、培養室3内が細胞培養に適当な一定の雰囲気（温度37℃、湿度100%、炭酸ガス濃度5%）に自動的に設定される。

次に、自動培養装置1の培養指令スイッチ（図示されず）を操作すると、搬入・搬出装置5が作動し、各ベルトコンベア23、26、29がシャーレ4の搬入方向に移動して、シャーレ4の搬入工程が開始される。即ち、被培養細胞の入ったシャーレ4をトレイ32上に載置し、搬入・搬出装置5内に送り込めば、同シャーレ4は、ベルトコンベア29、26、23により順次搬送され、培養室3内に移送される。この搬送途中において、ベルトコンベア23がシャッター24の開放に連動して支軸23aの周りを時計方向に一定角度回転し、その内端部

を搬入・搬出位置にある載置部材42の切欠42b内に嵌入させる。よって、シャーレ4はベルトコンベア23の搬送力により載置部材42上に自動的にセットされる。このシャーレ4の載置部材42上へのセットは、搬入・搬出検出用センサーによって検知され、このセンサーの出力に基づいて、搬入・搬出装置5はその作動を停止される。これにより、シャッター24の閉成に連動して、ベルトコンベア23は支軸23aの周りを一定角度反時計方向に回転して、水平位置より傾いた平生位置に復動し、その内端部は載置部材42の切欠42b内から退避する。

搬入・搬出装置5の作動停止に続いて、第4図に示した転送装置6が時計方向(第4図において)に回転され、シャーレ4は搬入・搬出位置から観察位置に移動される。ここで、操作者は観察装置14によって、被培養細胞の入ったシャーレ4が、培養室3内の所定位置にセットされたことを確認する。そして、これが確認された場合には、培養続行指令スイッチを操作する。すると、続いて、培養液の廃液工程が開始される。これはまず、転

の上昇途中において、チップ58の上端面をチップ挿脱管66の下端面に衝合させて、チップ58をその先端部から脱落させる。そして、所定位置まで復動した時点でモーター55の回転が停止されて、排液管51は平生位置に復帰する。排液管51の先端部から脱落した使用済のチップ58は、図示しないガイド手段を通じて培養室3外に取り出され、筐体2の底部寄りに配設されたチップ保存槽内に収納されて、後ほど廃棄される。この後、再び蓋開閉装置78が作動され、シャーレ4の蓋4aが閉成される。

続いて、洗浄液の注入工程が開始される。これはまず、転送装置6が反時計方向(第4図において)に回転され、シャーレ4が廃液位置から給液位置に移動される。次に、給液位置に対応する蓋開閉装置78が作動され、シャーレ4の蓋4aが開放される。続いて、第2図に示したローラーポンプ74bが作動され、洗浄液が収納容器72b内からローラーポンプ74b、加温器75b、給液チューブ76bを通じて、一定量(例えば3cc)だけシャー

レ4が時計方向に自動的に転送され、シャーレ4は観察位置から廃液位置に移動される。次に廃液位置に対応する蓋開閉装置78が作動され、シャーレ4の蓋4aが開放される。続いて、廃液装置7(第6図参照)のソレノイド64が作動され、チップ58がチップ挿脱管66内に供給される。そして、モーター55が作動され、駆動ベルト53の移動に伴って、排液管51が次第に降下される。排液管51は、その降下の途中において、チップ挿脱管66内のチップ58をその先端部に嵌着し、チップ挿脱管66を貫き抜けて廃液位置にあるシャーレ4内にチップ58の先端を進入させて、シャーレ4を押し動かしてこれを若干傾けた位置で停止する。続いて、図示しない吸引ポンプが所定時間作動されて、排液管51内を通じて、シャーレ4内の培養液をチップ58の下端開口より吸引して排出させる。次に、モーター55が先程とは反対方向に回転され、駆動ベルト53の移動に伴って、排液管51が上方に向けて復動される。排液管51が上昇すると、シャーレ4は水平態位に戻り、また排液管51は、そ

レ4内に供給される。そして、再び蓋開閉装置78が作動されて、シャーレ4の蓋4aが閉成される。この洗浄工程が、被培養細胞に付着した古い培養液を洗い流して、後の酵素処理工程において、酵素が有効に作用し得るようになるために行なわれることは前述の通りである。

次に、上記洗浄液注入工程でシャーレ4内に注入された洗浄液をシャーレ4外に排出するための、洗浄後の廃液工程が行なわれる。これはまず、第4図に示した転送装置6が時計方向に回転され、シャーレ4が給液位置から廃液位置に移動される。そして、これ以降は、既述した培養液の廃液工程と全く同様にして、洗浄液のシャーレ4内からの排出が行なわれる。

そして洗浄液の廃液工程の終了した後は、酵素液の注入工程が開始される。この工程はまず、第4図に示した転送装置6が反時計方向に回転されて、シャーレ4が廃液位置から給液位置に移動され、蓋開閉装置78が作動されて、シャーレ4の蓋4aが開放される。次に、第2図に示したローラー

ポンプ74cが作動され、酵素液が収納容器72c内からローラーポンプ74c、加温器75c、給液チューブ76cを通じて、一定量（例えば3cc）だけシャーレ4内に供給される。続いて、蓋開閉装置78が再び作動されて、シャーレ4の蓋4aが閉成され、シャーレ4は載置部材42上で約1分間静置される。この静置は、シャーレ4の底面に着床した被培養細胞に酵素液中の酵素（例えばトリプシン）を充分に作用させて、被培養細胞を生育面であるシャーレ4の底面から確実に遊離させるために行なわれる。次に、上記酵素液の注入工程でシャーレ4内に注入された酵素液の廃液工程が行なわれる。この廃液工程は、上記洗浄液の廃液工程と全く同様にして行なわれるので、その詳しい説明を茲に省略する。そして、この酵素液の廃液工程完了後は、シャーレ4は約10分間ほど載置部材42上で静置される。このシャーレ4の静置は、被培養細胞に残留付着した酵素液によって、細胞と生育面との遊離を促進すると共に、各細胞間の結合をも弱めて、被培養細胞間の単個化を促すために行な

が作動される。これにより、収納容器72a内からローラーポンプ74a、加温器75a、給液チューブ76aを通じて、培養液が一定量（例えば3cc）だけシャーレ4内に供給される。そして、再び蓋開閉装置78が作動されて、シャーレ4の蓋4aが閉成される。

続いて、培養液の攪拌工程が行なわれる。これはまず、第4図に示した転送装置6が時計方向に回転され、シャーレ4が給液位置から分注位置まで移動される。一方、これと同時に、第10～12図に示したビベット供給装置95が作動され、ビベット97がビベット受け部材122に供給されて保持される。そして、分注装置11（第9、11、12図参照）の回転撹動軸101が反時計方向に回転され、ペローズポンプ98が分注位置からビベット受け位置まで移動される。続いて、回転撹動軸101が降下され、ペローズポンプ98の吸引端98aがビベット97の上端開口に嵌合して、ビベット97がペローズポンプ98に装着される。そして、カムレバー132が回転軸131を中心として反時計方向に回転

われる。

上記シャーレ4の静置が終了すると、次に、細胞の剥離工程が行なわれる。この工程はまず、第4図に示した転送装置6が時計方向に回転され、シャーレ4が廃液位置から剥離位置まで移動される。続いて、第8図に示した剥離装置9のソレノイド91に断続的に1分間ほど通電が行なわれ、叩打部材93が連続的にシャーレ4または蓋4aの側面を叩いてシャーレ4に横方向の振動を加えることによって行なわれる。この振動が加えられると、シャーレ4の底面より遊離状態にある被培養細胞は横方向のずれ力を受け、そのずれ力に基づく自らの慣性等により底面から確実に剥離される。

次に、上記剥離工程の終了後、剥離された細胞を単個化するために、まず培養液の注入工程が行なわれる。この工程は初めに、第4図に示した転送装置6が反時計方向に回転され、シャーレ4が剥離位置から給液位置まで移動される。次に、蓋開閉装置78が作動されて、シャーレ4の蓋4aが開放され、次で第2図に示したローラーポンプ74a

されて一時的にビベット97との係合位置から退避されると、こんどは回転撹動軸101が上方に向けて移動され、続いて時計方向に回転されて、ビベット97を装着するペローズポンプ98がビベット受け位置から分注位置まで復動される。次に、分注位置に対応する蓋開閉装置78が作動され、シャーレ4の蓋4aが開放される。続いて、回転撹動軸101が再び降下され、ビベット97の先端部が分注位置にあるシャーレ4内に嵌入され、同シャーレ4を押圧して若干傾けた状態で、その降下が停止される。次に、ペローズポンプ98が吸引作動され、シャーレ4中の培養液が一定量（例えば、3cc）だけビベット97内に吸引される。このため、シャーレ4内で剥離状態にあった被培養細胞は、ビベット97の細い吸引口を通過する際に、相互に分離されて更に単個化されながらビベット97内に培養液と一緒に吸引される。この培養液の吸引後、回転撹動軸101が再び上昇され、ビベット97が高い位置にある状態でペローズポンプ98が排出方向に作動され、ビベット97内の培養液は被培養細胞と

一緒に、シャーレ4内に再び排出される。このため、被培養細胞は更に単個化される。上記ビベット97による培養液の吸引・排出は、10回繰り返えされ、培養液が十分に攪拌されて被培養細胞が完全に単個化される。

上記攪拌工程に続いて、培養液の分注工程が行なわれる。この工程はまず、上記回転摺動軸101が降下されて、シャーレ4中の単個化された被培養細胞を含む培養液が、ペローズポンプ98の吸引動作により、一定量（例えば、3cc）だけ、ビベット97内に吸引される。続いて、蓋開閉装置78が作動されて、シャーレ4の蓋4aが閉成される。また、これと同時に、第13図に示したシャーレ供給装置12が作動され、シャーレ供給位置にある載置部材42上に新しいシャーレ4が1つ供給されてセットされる（以下、この新しいシャーレ4を、第1のシャーレ4と称す。）。続いて、第4図に示した転送装置6がシャーレ転送部37の1つ分だけ時計方向に回転され、再びシャーレ供給装置12が作動されて、シャーレ供給位置にある載置部材42上

にもう1つの新しいシャーレ4が供給されてセットされる（以下、この新しいシャーレ4を、第2のシャーレ4と称す。）。即ち、相隣り合った載置部材42上に、2つの新しいシャーレ4が取り出されてセットされる。次に、転送装置6が時計方向に回転され、第1のシャーレ4が分注位置まで移動される。そして、蓋開閉装置78が作動されて、第1のシャーレ4の蓋4aが開放され、この後、ペローズポンプ98の排出動作が行なわれ、ビベット97内の単個化された被培養細胞を含む培養液が半分（例えば、1.5cc）だけ、第1のシャーレ4内に排出される。そして、再び蓋開閉装置78が作動されて、第1のシャーレ4の蓋4aが閉成される。続いて、転送装置6が時計方向にシャーレ転送部37の1つ分だけ回転され、第2のシャーレ4が分注位置まで移動される。しかる後に、蓋開閉装置78が作動され、第2のシャーレ4の蓋4aが開放されて、ペローズポンプ98が再び排出動作を行ない、ビベット97内の単個化された被培養細胞を含む培養液の残余の半分が、第2のシャーレ4内

に排出される。そして、再び蓋開閉装置78が作動されて、第2のシャーレ4の蓋4aが閉成される。

このようにして第1および第2のシャーレ4中に入れられた培養液は、所定量の半分程度しかなく、このままでは細胞の培養には充分でないので、足りない分の培養液を第1および第2のシャーレ中に補充する培養液の補注工程が次に行なわれる。この補注工程はまず、第4図に示した転送装置6を反時計方向に回転させ、第2のシャーレ4を分注位置から給液位置まで移動させる。次に、蓋開閉装置78が作動して第2のシャーレ4の蓋4aが開放された後、第2図に示したローラーポンプ74aが作動され、収納容器72aからローラーポンプ74a、加温器75a、給液チューブ76aを通じて培養液が不足分（例えば、2cc）だけ、第2のシャーレ4中に供給される。そして、再び蓋開閉装置78が作動されて、第2のシャーレ4の蓋4aが閉成される。続いて、第4図に示した転送装置6が再び反時計方向にシャーレ載置部37の1つ分だけ回転されて、第1のシャーレ4が給液位置まで移

動される。この後、蓋開閉装置78が作動されて第1のシャーレ4の蓋4aが開放され、第2図に示したローラーポンプ74aが作動されて、第1のシャーレ4中にも不足分（例えば、2cc）の培養液が供給される。そして、蓋開閉装置78が作動されて、第1のシャーレ4の蓋4aが閉成される。

上記培養液の補注工程が終了した後、分注装置11（第9、11、12図参照）に装着されたままになっている使用済のビベット97の廃棄工程が行なわれる。即ち、回転摺動軸101が反時計方向に回転され、ペローズポンプ98がビベット受け位置に向けて回動される。このため、ペローズポンプ98は、ストッパーピン134に係合するビベット離脱位置に復動しているカムレバー132の先端位置まで移動し、吸引端98aを楔型カム部132a、132b間に嵌人させると共に、銜部98cとビベット97との間に両カム部132a、132bの先端部をそれぞれ嵌入させ、ビベット97を吸引端98aより引き離す。よって、ビベット97は、自重により、吸引端98aより脱落し、図示しないガイド手段を通じて、培養室3外

に取り出されて、筐体2の底部寄りに配設されたビベット保存槽に収納される。回転摺動軸101は、ペローズポンプ98を一旦ビベット受け位置まで回転させた後、反転されて、再びペローズポンプ98を分注位置まで復動させて停止する。

続いて、単個化した培養細胞を含む培養液を取り出した後の、使用済の古いシャーレ4を、自動培養装置1外に取り出すためのシャーレ4の廃棄工程が行なわれる。この工程はまず、第4図に示した転送装置6が回転され、古いシャーレ4が搬入・搬出位置まで移動される。次に、搬入・搬出装置5が作動され、各ベルトコンベア23、26、29が搬出方向に移動されて、シャーレ4の搬出が開始される。即ち、シャッター24を開放すると、これに連動してベルトコンベア23が支軸23aの周りを時計方向に回転され、内端部が搬入・搬出位置にある載置部材42の切欠42b内に嵌入されて、この載置部材42上に載置された古いシャーレ4は、係合爪23bの作用と、コンベア23との搬送力とにより、コンベア23上に載せられる。そしてベルト

コンベア23、26、29上を順次搬送され、コンベア29の搬送力により、トレー32上に送り出される。よって、このシャーレ4をトレー32上から手作業で取り上げて、これを廃棄すればよい。

そして、以上のようにして、上記第1および第2のシャーレ4中に作成された次世代の培養系の細胞は、その培養が開始される。この培養工程は、一定の雰囲気に保たれた培養室3中で、第1および第2のシャーレ4を長時間（例えば、3日間）に亘り静置することによって行なわれる。第1および第2のシャーレ4中に単個化されて浮遊状態にある被培養細胞は、シャーレ4が静置されることによって、培養液中を沈降し、シャーレ4の底面に着床して、これを生育面として細胞分裂による増殖を開始する。この際、培養液は豊富な栄養源を含み、かつ、増殖に最適な温度およびpHに保たれているので、被培養細胞は確実に増殖を行なう。

増殖に必要な所定時間が経過したならば、自動培養装置1に設けられた転送指令スイッチ（図示

されず）を操作して、転送装置6を回転させ、第1のシャーレ4を観察位置まで移動させる。そして、観察装置14により、第1のシャーレ4内の細胞の増殖状態を観察する。また、同様にして、第2のシャーレ4内の細胞の増殖状態を観察する。この第1および第2のシャーレ4中の細胞の観察により、増殖状態が充分でなく、増殖を続行する場合には、そのまま第1および第2のシャーレ4を静置する。また、所定の増殖状態が得られ、この増殖した細胞を被培養細胞として更に次世代の培養系を作成して継代培養を行ないたい場合には、培養続行指令スイッチを操作する。すると、第16図に示すように、第1および第2のシャーレ4に対して、再び、培養液の廃液工程からシャーレ4の廃棄工程までが行なわれ、更に次世代の細胞の培養系が作成されて、細胞の第3世代の培養が行なわれる。

そして、第1および第2のシャーレ4中の細胞の観察により、それ以上の培養が必要ないと判断された場合には、第1および第2のシャーレ4の

搬出工程が行なわれる。この搬出工程は、上記シャーレ4の廃棄工程と同様に、第1および第2のシャーレ4を転送装置6を回転して順次搬入・搬出位置まで移動させ、搬入・搬出装置5を2回作動させることによって行なわれる。搬出された第1および第2のシャーレ4は、順次トレー32上に送り出されてくるので、これらシャーレ4を手作業で取り上げ、シャーレ内で生育した細胞を所望の目的、例えば実験等に使用すればよい。

以上述べたように、本発明の方法および装置によれば、細胞培養の全工程を1つの培養室内で連続して行なえるようにしたことにより、恒常的に培養条件を保つことができ、環境が乱されることがないので、安定した培養細胞を常時得ることができる。

また、培養室と外部との接触部位に、無菌的に開閉を行なえるシャッター機構やフィルター機構を設けたことにより、培養細胞が雑菌やウイルス等により汚染される危険性が少ない。

さらに、廃液装置や分注装置に、チップやビベ

ットの供給機構および廃棄機構を設けたことにより、シャーレ相互間の汚染が防止される。

さらにまた、培養液、酵素液等を使用時まで低温保存するようにしたので、薬剤や酵素が不活化しないと共に、何度も取り替える必要性がなくなり、汚染のおそれも少なくなる。

また、剝離機構、攪拌機構を簡易にしたことにより、細胞の損傷を少なくし、高い収率で細胞を回収することができる。

さらに、培養液の分注、攪拌、剝離等の操作を機械的に行なうことにより、人手によるよりも正確で、いつも均一な操作を行なうことができると共に、操作内容を随意に調節して変更することができる。

さらにまた、細胞培養の基本操作であるところの継代培養操作を汚染なく、安定して行なえる結果、培養細胞を用いた実験の信頼性が向上する、薬液注入器等の付属装置を配設することにより、様々な培養実験への応用が可能である、バイオハザードのおそれの少ない安全性の高い実験を行な

うことができる、等の効果も得られる。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明の一実施例を示す細胞の自動培養装置の正面要部断面図、

第2図は、上記第1図に示した自動培養装置の機械室の平面図、

第3図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された搬入・搬出装置の断面図、

第4図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された転送装置の平面図、

第5図は、上記第4図に示した転送装置におけるシャーレ転送部の斜視図、

第6図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された廃液装置の要部断面図、

第7図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された蓋開閉装置の要部斜視図、

第8図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された剝離装置の側面図、

第9図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された分注装置の要部断面図、

第10図は、上記第9図に示した分注装置に付設されたビベット供給装置の平面図、

第11図は、上記第9図に示した分注装置と、ビベット離脱装置との配置関係を示す要部斜視図、

第12図は、上記第9図に示した分注装置におけるベローズポンプの回動軌跡と、上記第10図に示したビベット供給装置のビベット受け部材および上記第11図に示したビベット離脱装置のカムレバーとの位置関係を示す要部平面図、

第13図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設されたシャーレ供給装置の平面図、

第14図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された観察装置の断面図、

第15図は、上記第14図に示した観察装置における対物レンズの駆動機構を示す要部拡大斜視図、

第16図は、本発明の一実施例を示す細胞の自動培養方法の順次の工程を示すフローチャートである。

1 自動培養装置

3 培養室

4 シャーレ（培養容器）

5 搬入・搬出装置

6 転送装置

7 廃液装置

8 給液装置

9 剝離装置

11 分注装置

12 シャーレ供給装置

13 制御装置

14 観察装置

78 蓋開閉装置

95 ビベット供給装置

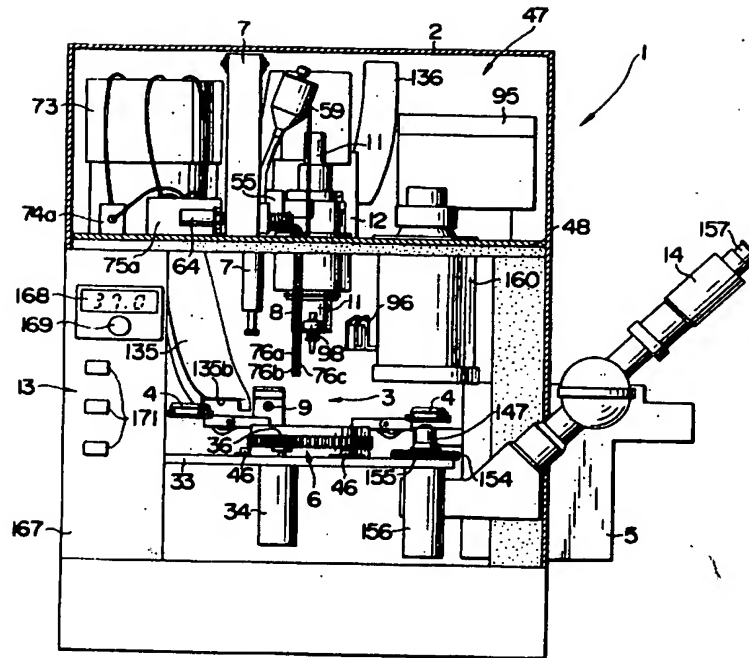
96 ビベット離脱装置

特許出願人 オリンパス光学工業株式会社

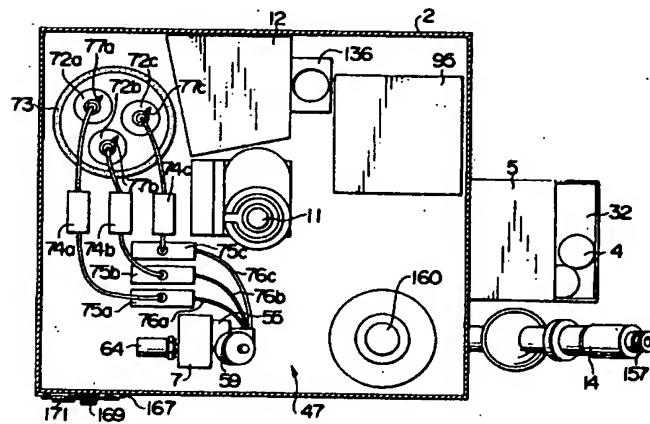
代理人 藤 川 七



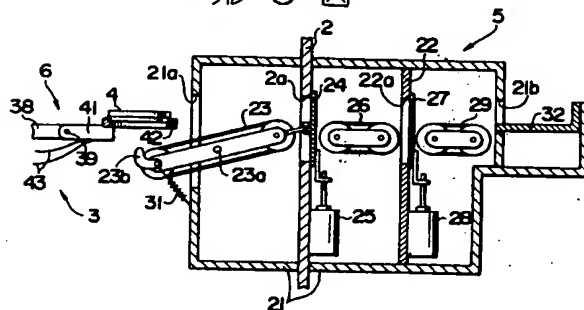
第 1 図



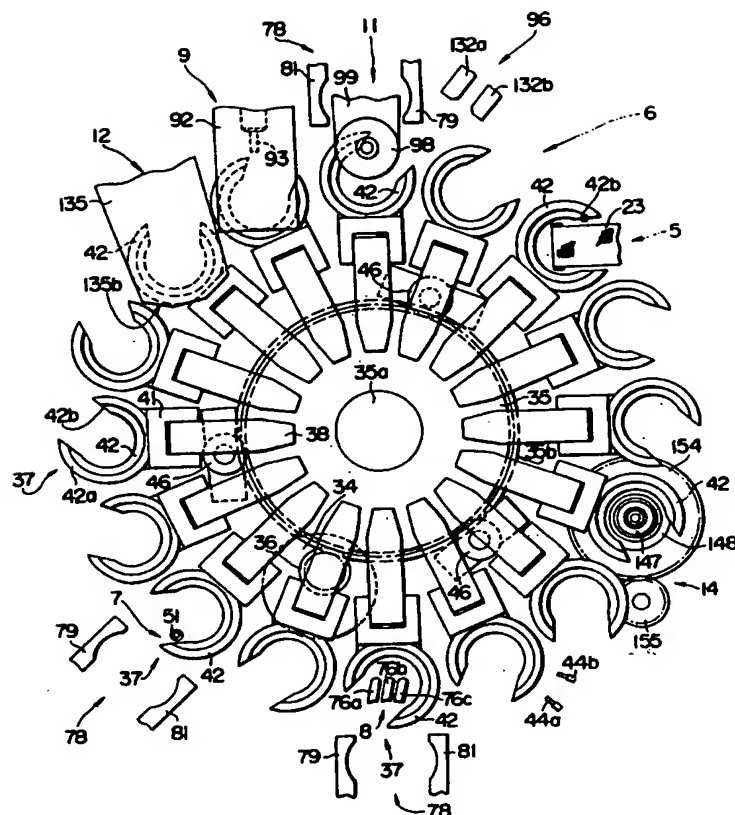
第 2 図



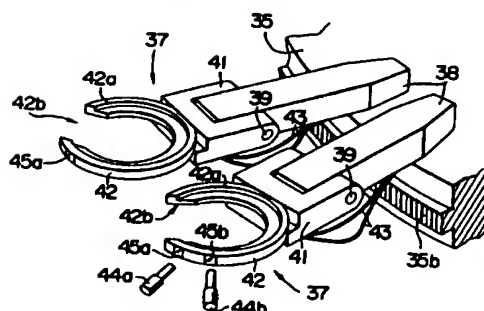
第 3 図



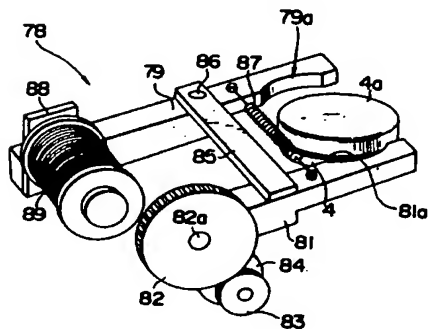
第 4 页



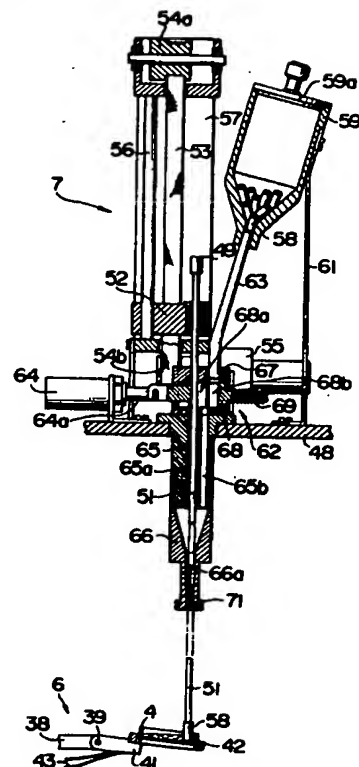
第 5 回



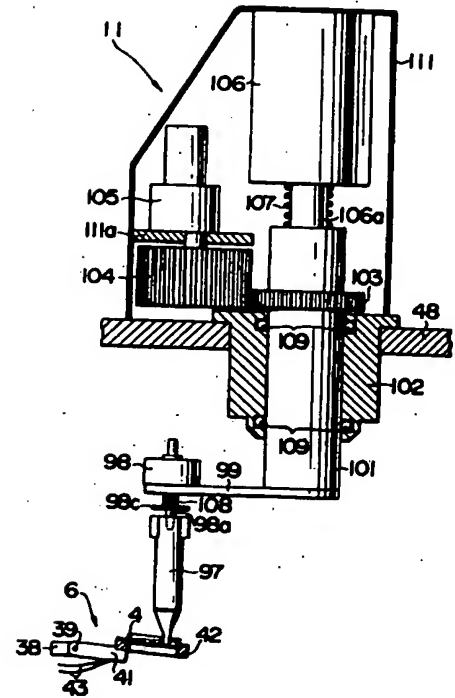
第 7 ☒



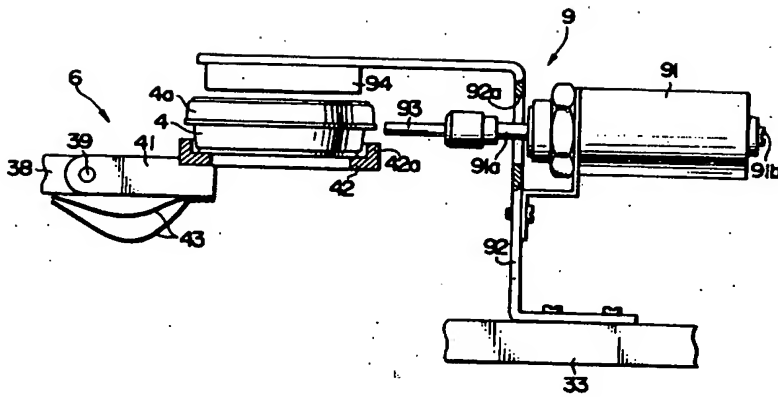
第 6 题



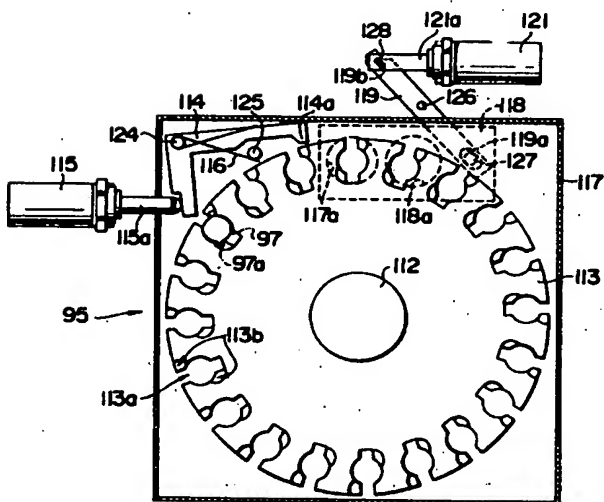
第 9 図



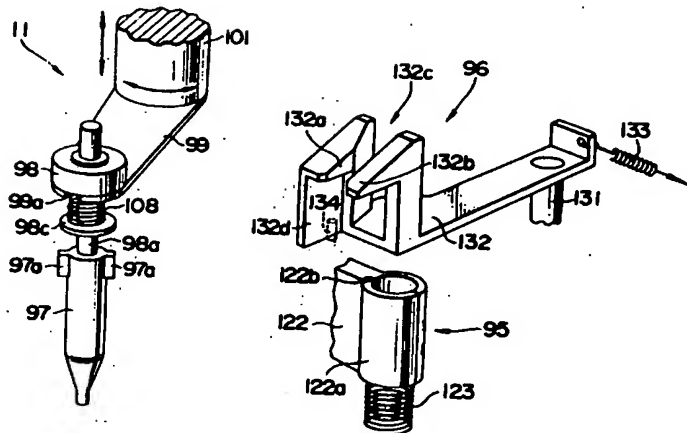
第 8 図



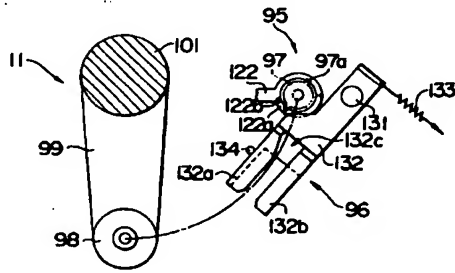
第 10 図



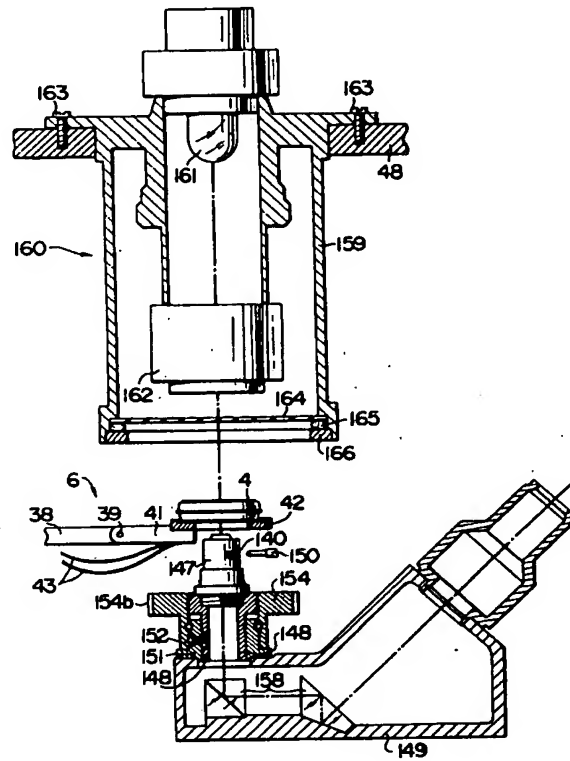
第 11 図



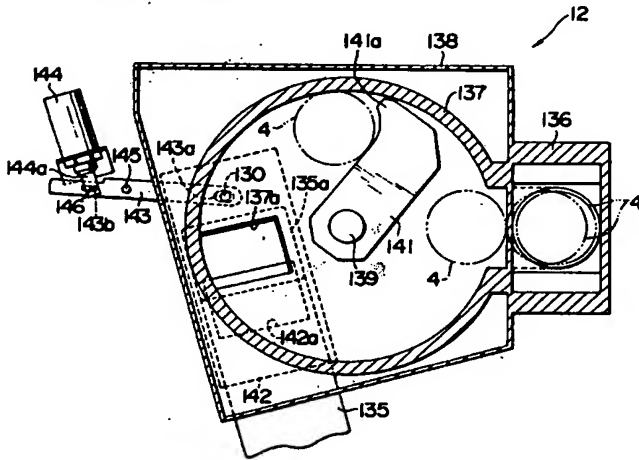
第12図



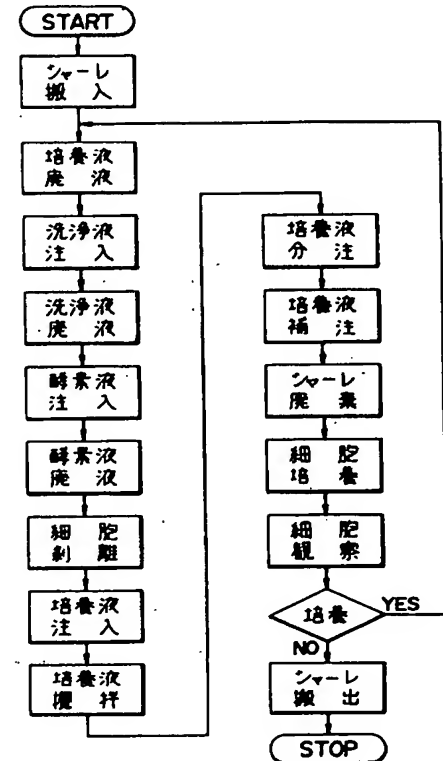
第14図



第13図



第16図



第15図

